

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/004512

International filing date: 15 March 2005 (15.03.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2004-114736
Filing date: 15 March 2004 (15.03.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 09 June 2005 (09.06.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

17.03.2005

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed
with this Office.

出願年月日 2004年 3月15日
Date of Application:

出願番号 特願2004-114736
Application Number:

パリ条約による外国への出願
に用いる優先権の主張の基礎
となる出願の国コードと出願
番号
The country code and number
of your priority application,
to be used for filing abroad
under the Paris Convention, is

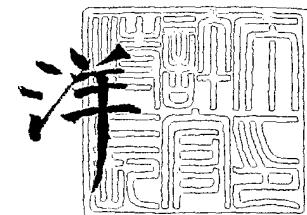
J P 2 0 0 4 - 1 1 4 7 3 6

出願人 有限会社康源
Applicant(s):

2005年 5月26日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小川



【書類名】 特許願
【提出日】 平成16年 3月15日
【あて先】 特許庁長官 今井 康夫 殿
【発明者】
 【住所又は居所】 静岡県駿東郡清水町堂庭 226番地32
 【氏名】 高橋 守
【発明者】
 【住所又は居所】 静岡県静岡市大谷 836番地
 【氏名】 河岸 洋和
【発明者】
 【住所又は居所】 茨城県つくば市並木二丁目住宅 126棟101号
 【氏名】 山元 恵
【発明者】
 【住所又は居所】 茨城県つくば市上広岡 460-152
 【氏名】 菅野 さな枝
【特許出願人】
 【住所又は居所】 静岡県駿東郡清水町堂庭 226番地32
 【氏名又は名称】 有限会社康源
 【代表者】 高橋 守
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 図面 1
 【物件名】 要約書 1

【書類名】特許請求の範囲

【請求項1】

茸抽出物を含有することを特徴とする破骨細胞の分化または増殖の抑制剤。

【請求項2】

茸抽出物を含有することを特徴とする破骨細胞の分化または増殖の抑制食品。

【請求項3】

茸が茶樹茸、松茸、マコモタケから選ばれてなる請求項1の破骨細胞の分化または増殖の抑制剤。

【請求項4】

茸が茶樹茸、松茸、マコモタケから選ばれてなる請求項2の破骨細胞の分化または増殖の抑制食品。

【請求項5】

茸粉碎物を含有することを特徴とする破骨細胞の分化または増殖の抑制剤。

【請求項6】

茸粉碎物を含有することを特徴とする破骨細胞の分化または増殖の抑制食品。

【請求項7】

茸が茶樹茸、松茸、マコモタケから選ばれてなる請求項5の破骨細胞の分化または増殖の抑制剤。

【請求項8】

茸が茶樹茸、松茸、マコモタケから選ばれてなる請求項6の破骨細胞の分化または増殖の抑制食品。

【書類名】明細書

【発明の名称】破骨細胞の分化・増殖阻害剤

【技術分野】

【0001】

本発明は茸抽出物を含有する破骨細胞の分化または増殖の抑制剤または抑制食品に関する。

【背景技術】

【0002】

日本では2000年には高齢化率が17%を突破し、平均寿命も20年間世界一の高齢化社会を維持している。この急激な高齢化に伴い老化によるさまざまな慢性疾患が急増している。特に高齢者の生活の質を脅かす骨折とその原因となる骨粗鬆症の予防に关心が寄せられている。日本には1000万人の骨粗鬆症患者があり、寝たきり高齢者の20%が骨折を原因とすると言われている。

【0003】

骨粗鬆症は骨の骨量が減少し骨梁がなくなっていく状態を示す。骨量は、骨を作る骨芽細胞の活性（増殖）と、骨を壊す破骨細胞の活性（増殖）のバランスによってコントロールされており、骨形成と骨吸収のサイクルを骨のリモデリングと呼んでいる。

【0004】

破骨細胞は造血系の幹細胞に由来し、単球・マクロファージ系の前駆細胞から分化する巨細胞である。破骨細胞は正常な骨組織の発達、リモデリングに関与しているが、骨粗鬆症における骨量減少、慢性関節リウマチにおける骨関節破壊、がんの骨転移などの病態に破骨細胞が重要な役割を果たしていることが知られるようになった（非特許文献1）（非特許文献2）。

【0005】

進行性がんはしばしば骨転移をきたし、患者のQOLを損なう。骨転移の初期には、先ず破骨細胞が骨基質の破壊を促進し、そこにがん細胞が生着すると言われている。

【0006】

また、がんの成長に重要な血管新生促進因子と破骨細胞の骨吸収活性に強い因果関係があることが研究されている（非特許文献3）（非特許文献4）（非特許文献5）（非特許文献6）。

【0007】

これまで骨粗鬆症治療薬はカルシウム製剤、エストロゲン製剤、イソフラボン製剤、カルシトニン製剤、ビスフォスフォネート製剤、活性型ビタミンD製剤およびビタミンK製剤が使用されている。微生物由来の物質としてリペロマイシンA（特許文献1）、植物由来の物質として大豆やクローバーのイソフラボンやマチョエキス（特許文献2）が知られている。

【特許文献1】特許第1905330号

【特許文献2】特開2003-313137

【非特許文献1】Woodhouse, E. C., : Cancer 80 (Suppl.), 1529-1537, 1997

【非特許文献2】Paleolog E. M., : J. Rheumatol., 35, 917-919, 1996

【非特許文献3】Leung D. W., Science, 246, 1306-1309, 1989

【非特許文献4】Goad D. L., Endocrinology, 137, 2262-2268, 1996

【非特許文献5】Gerber H. P., Nat. Med., 5, 623-628, 1999

【非特許文献6】Niida S., J. Exp. Med., 190, 293-298, 1999

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

破骨細胞の分化または増殖の抑制剤または抑制食品を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0009】

骨粗鬆症における骨量減少の抑制や慢性関節リウマチにおける骨関節破壊、あるいはがんの骨転移の予防や治療に利用できる破骨細胞の分化・増殖を抑制する安全性の高い物質を大量に、安価に入手することは困難であった。

【0010】

我々は安全性の高い物質を大量に安価に入手するために、長い食習慣を有する食材から破骨細胞の分化・増殖を抑制する活性を有するものを発見した。これにより骨粗鬆症における骨量減少の抑制や慢性関節リウマチにおける骨関節破壊、がんの骨転移の予防、治療が可能となり、茸粉碎物、茸抽出物を含有することを特徴とする破骨細胞の分化増殖抑制剤や茸抽出物を含有することを特徴とする破骨細胞の分化増殖抑制食品を提供することが可能となり、医薬としてのみならず食品としても摂取できる組成物を提供することができる。

【0011】

すなわち、本願発明は

- (1) 茸抽出物を含有することを特徴とする破骨細胞の分化または増殖の抑制剤。
- (2) 茸抽出物を含有することを特徴とする破骨細胞の分化または増殖の抑制食品。
- (3) 茸が茶樹茸、松茸、マコモタケから選ばれてなる(1)の破骨細胞の分化または増殖の抑制剤。
- (4) 茸が茶樹茸、松茸、マコモタケから選ばれてなる(2)の破骨細胞の分化または増殖の抑制食品。
- (5) 茸粉碎物を含有することを特徴とする破骨細胞の分化または増殖の抑制剤。
- (6) 茸粉碎物を含有することを特徴とする破骨細胞の分化または増殖の抑制食品。
- (7) 茸が茶樹茸、松茸、マコモタケから選ばれてなる(5)の破骨細胞の分化または増殖の抑制剤。
- (8) 茸が茶樹茸、松茸、マコモタケから選ばれてなる(6)の破骨細胞の分化または増殖の抑制食品。

を提供できる。

【発明の効果】

【0012】

本発明は、天然品や栽培、あるいはタンク培養等により大量で安価に入手することができる、長い食習慣から安全性の高さが確認されている茸に、破骨細胞の分化・増殖を抑制するきわめて高い活性を始めて見出したことにより完成された。安全性の高い安価な茸、あるいはその抽出物を摂取することで、骨粗鬆症における骨量減少の抑制や慢性関節リウマチにおける骨関節破壊、がんの骨転移の予防、治療を可能とする破骨細胞の分化・増殖を抑制する骨量減少の抑制や慢性関節リウマチにおける骨関節破壊、あるいはがんの骨転移の予防や治療のための食品、食品組成物あるいは医薬組成物を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0013】

以下、本発明の構成および好ましい形態について詳しく説明する。

【0014】

本発明において使用できる茸類に分類される菌として、Agaricales目に属するHygrophoraceae科、Pleurotaceae科、Schizophyllaceae科、Amanitaceae科、Pluteaceae科、Tricholomataceae科、Agaricaceae科、Coprinaceae科、Bolbitiaceae科、Strophariaceae科、Cortinariaceae

e科、Crepidotaceae科、Rhodophyllaceae科、Paxillaceae科、Gomphidiaceae科、Strobilomyctaceae科、Boletaceae科、Russulaceae科、Aphyllophorales目に属するCantharellaceae科、Gomphaceae科、Clavariaceae科、Claviciponaceae科、Ramariaceae科、Stereaceae科、Hymenochaetaceae科、Sparassidaceae科、Corticiciaceae科、Thelephoraceae科、Meruliaceae科、Fistulinaceae科、Climacodontaceae科、Hydnaceae科、Auriscalpiaceae科、Hericiaceae科、Bondarzewiaceae科、Polyporaceae科、Ganodermataceae科、Auriculariales目に属するAuriculariaceae科、Exidiaceae科、Syzygosporaceae科、Tremellales目に属するTremellaceae科、Dacrymycetales目に属するDacrymycetaceae科、Sirobasidiaceae科、Exobasidiiales目に属するExobasidiaceae科、Ustilaginales目に属するUstilaginaceae科、Yeniaceae科、Phallales目に属するPhallaceae科、Protophallaceae科、Clathraceae科、Hymenogastrales目に属するRhizopogonaceae科、Secotiaceae科、Tulostomatales目に属するTulostomataceae科、Lycoperdales目に属するGeastraceae科、Lycoperdaceae科、Sclerodermales目に属するAstraeaceae科、Pisolithaceae科、Sclerodermataceae科、Calostomatales目に属するCalostomataceae科、Nidulariales目に属するNidulariaceae科、Clavicipitales目に属するClavicipitaceae科、Hypocreales目に属するHypocreaceae科、Xylariales目に属するXylariaceae科、Sphaeriales目に属するSphaeriaceae科、Diatrypaceae科、Tuberales目に属するTuberaceae科、Helotiaceae科、Geoglossaceae科、Leotiaceae科、Sclerotiniaceae科、Bulgariaceae科、Perizales目に属するPezizaceae科、Sarcosomataceae科、Morchellaceae科、Helvellaceae科等の破骨細胞の分化または増殖を抑制する活性を有するいずれの茸も使用できる。

【0015】

この中でHygrophoraceae科、Pleurotaceae科、Schizophyllaceae科、Amanitaceae科、Pluteaceae科、Tricholomataceae科、Agaricaceae科、Coprinaceae科、Bolbitiaceae科、Strophariaceae科、Cortinariaceae科、Crepidotaceae科、Rhodophyllaceae科、Paxillaceae科、Gomphidiaceae科、Strobilomyctaceae科、Boletaceae科、Russulaceae科、Cantharellaceae科、Gomphaceae科、Clavariaceae科、Claviciponaceae科、Ramariaceae科、Sparassidaceae科、Thelephoraceae科、Fistulinaceae科、Hydnaceae科、Hericiaceae科、Bondarzewiaceae科、Polyporaceae科、Auriculariaceae科、Exidiaceae科、Syzygosporaceae科、Tremellaceae科、Dacrymycetaceae科、Sirobasidiaceae科、Ustilaginaceae科、Yeniaceae科、Phallaceae科、Clathraceae科、Rhizopogonaceae科、Secotiaceae科、Tulostomataceae

科、*Lycoperdaceae*科、*Astraeaceae*科、*Pisolithaceae*科、*Sclerodermataceae*科、*Clavicipitaceae*科、*Tuberaceae*科、*Geoglossaceae*科、*Sclerotiniaceae*科、*Bulgariaceae*科、*Pezizaceae*科、*Sarcosomataceae*科、*Morchellaceae*科、*Helvellaceae*科の菌は食用菌として知られている。

【0016】

および／あるいは*Pleurotaceae*科、*Schizophyllaceae*科、*Amanitaceae*科、*Pluteaceae*科、*Tricholomataceae*科、*Agaricaceae*科、*Coprinaceae*科、*Bolbitiaceae*科、*Strophariaceae*科、*Cortinariaceae*科、*Paxillaceae*科、*Gomphidiaceae*科、*Strobilomycetaceae*科、*Boletaceae*科、*Russulaceae*科、*Cantharellaceae*科、*Clavariaceae*科、*Ramariaceae*科、*Thelephoraceae*科、*Hydnaceae*科、*Hericiaceae*科、*Bondarzewiaceae*科、*Polyporaceae*科、*Ganodermataceae*科、*Auriculariaceae*科、*Tremellaceae*科、*Ustilaginaceae*科、*Yeniacaeae*科、*Phallaceae*科、*Clathraceae*科、*Rhizopogonaceae*科、*Secotiaceae*科、*Tulostomataceae*科、*Geastraceae*科、*Lycoperdaceae*科、*Astraeaceae*科、*Pisolithaceae*科、*Sclerodermataceae*科、*Nidulariaceae*科、*Clavicipitaceae*科、*Hypocreaceae*科、*Xylariaceae*科、*Sarcosomataceae*科、*Morchellaceae*科の菌は薬用として知られている。

【0017】

また*Pleurotaceae*科、*Schizophyllaceae*科、*Amanitaceae*科、*Pluteaceae*科、*Tricholomataceae*科、*Agaricaceae*科、*Coprinaceae*科、*Bolbitiaceae*科、*Strophariaceae*科、*Cortinariaceae*科、*Rhodophyllaceae*科、*Paxillaceae*科、*Boletaceae*科、*Russulaceae*科、*Cantharellaceae*科、*Ramariaceae*科、*Stereaceae*科、*Sparassidaceae*科、*Meruliaceae*科、*Fistulinaceae*科、*Hydnaceae*科、*Hericiaceae*科、*Bondarzewiaceae*科、*Polyporaceae*科、*Ganodermataceae*科、*Auriculariaceae*科、*Exidiaceae*科、*Tremellaceae*科、*Ustilaginaceae*科、*Phallaceae*科、*Clathraceae*科、*Rhizopogonaceae*科、*Secotiaceae*科、*Lycoperdaceae*科、*Calostomataceae*科、*Hypocreaceae*科、*Sclerotiniaceae*科の菌には抗癌作用があることが知られている。

【0018】

毒キノコとして知られる茸があるので直接的な摂取には注意を要する場合があるが、茸類には豊富なミネラル、アミノ酸類、多糖類、糖タンパク質類と食物纖維等が豊富に含まれており、古くから健康の維持あるいは治療に用いられてきた。

【0019】

近年、茸類の薬効・食効が検討され、抗腫瘍作用、抗がん作用、血糖降下作用、強心作用、血圧降下作用、抗血栓作用、コレステロール低下作用、痴呆性改善、肥満抑制作用、摂食抑制作用、抗菌性、抗ウイルス作用、鎮痛作用、脱臭作用、膠原病改善作用等が知られるようになった。

【0020】

またカルシウムの吸収を高め、骨芽細胞の働きを活性化すると言われているビタミンD

2の前駆体のエルゴステロールが含まれていることが知られている。

【0021】

本発明において使用する茸として好ましいのは破骨細胞の分化または増殖を抑制する強い活性を有する茸である。例えばBolbitiaceae科の茶樹茸、Tricholomataceae科の松茸、Yeniacaea科のマコモタケ（マコモに黒穂病が感染し肥大化した幹の部分を指す。寄生主はマコモと限らない）が挙げられるが、破骨細胞の分化または増殖を抑制する活性を有するいずれの茸も使用でき、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0022】

茸の子実体、菌糸体や菌核は天然品や栽培、あるいはタンク培養等により入手することが可能であり、得られた子実体、菌糸体や菌核はそのまま、あるいは粉碎して摂取しやすい形に加工すればよい。また子実体、菌糸体や菌核から抽出したエキスを摂取してもよい。

【0023】

更には、茸あるいはそのエキスから破骨細胞の分化、増殖を阻害する物質を単離し濃縮した形で摂取することも可能であり、単離した物質を化学的に合成して用いることもできる。

【0024】

本願発明において抽出物とは茸（必要に応じて乾燥、粉碎した茸）を有機溶媒あるいは熱水で抽出したものという。有機溶媒にはヘキサン、クロロホルム、酢酸エチル、ブタノール等があげられ、好ましくはクロロホルムである。茸類から有効成分を抽出する方法は、常法により酵素的処理や物理的処理により菌体を破碎し、熱水あるいは有機溶媒等を用いて抽出を行えばよい。また、粉碎物とは必要に応じて乾燥させた茸を粉碎機、ホモジナイザー、ミル等を用いて粉碎したものをいう。更に、ジェットミル等を用いて数ミクロンまで粉碎させたものも含む。

【0025】

これらに糖類、脂質類、たんぱく質類、ペプチド類、アミノ酸類、脂肪酸類、有機酸類や塩類を共存させて破骨細胞の分化増殖抑制活性を安定的に存在させることができる。

【0026】

これらの茸類の子実体、菌糸体や菌核、その加工品、抽出物等を単独で摂取してもよいが、骨組織と親和性の強い化合物あるいはたんぱく質、ペプチドと共に存あるいは結合させた剤型としたり、複数の茸類の子実体、菌糸体や菌核、その加工品、抽出物等と組み合わせるか、さらに必要に応じて他の製剤上使用される通常の添加剤や、助剤例えば充填剤、崩壊剤、結合剤、滑沢剤、香料などを用いて、常法により、液剤、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、ドライシロップ剤、チュアブル剤等に加工して摂取することもできる。

【0027】

摂取する量としては摂取する者の体重、性別、年齢等により適宜調整可能だが、通常は乾燥させた子実体換算量として成人1日あたり1～300g、好ましくは2～30g程度である。

【0028】

本発明の破骨細胞の分化、増殖を抑制する作用はインビトロで破骨細胞活性に対する直接作用を調べることにより立証される。

【0029】

また、この発明には新聞、雑誌、テレビ、ラジオ等のマスメディアやインターネット等の電子媒体を用いて、破骨細胞の分化、増殖を阻害する活性を有する茸製品として茸製品を宣伝することも含まれる。

【0030】

次に、本発明の実施例を詳しく述べるが、本発明は何らこれにより限定されるものではない。

【実施例1】

【0031】

*Yeniacaceae*科のマコモタケは中華人民共和国や台湾で中華料理の食材として使われており、最近では日本国内でも栽培され、輸入品や石川県津幡町の栽培品を簡単に入手することができる。乾燥・粉碎したマコモタケ20gにクロロホルム100mLを加え、室温で2時間、時々搅拌しながら抽出し、濾過して得た抽出液を減圧乾固させた。

【実施例2】

【0032】

*Bolbitiaceae*科の茶樹茸は中華人民共和国で食材として使われ、輸入品を簡単に入手することができる。乾燥・粉碎した茶樹茸20gにクロロホルム100mLを加え、室温で2時間、時々搅拌しながら抽出し、濾過して得た抽出液を減圧乾固させた。

【実施例3】

【0033】

*Tricholomataceae*科の松茸は高級茸として食材として使われ、国内品や輸入品を簡単に入手することができる。乾燥・粉碎した松茸20gにクロロホルム100mLを加え、室温で2時間、時々搅拌しながら抽出し、濾過して得た抽出液を減圧乾固させた。

【実施例4】

【0034】

*Hericiaceae*科のヤマブシタケは中華人民共和国で中華料理の食材として使われており、最近では日本国内でも栽培され、簡単に入手することができる。乾燥・粉碎したヤマブシタケ20gにクロロホルム100mLを加え、室温で2時間、時々搅拌しながら抽出し、濾過して得た抽出液を減圧乾固させた。

【実施例】

【0035】

骨髄由来の破骨前駆細胞からM-CSFとRANKLを用いて破骨細胞を誘導する系が確立されている（非特許文献6）（非特許文献6）（非特許文献6）。市販の破骨細胞培養キットを用いてもよい。本発明では理研ジーンバンクのラット子宮エストロジエン受容体cDNA（pUC-E R 6, RDB No. 1376）を遺伝子挿入して誘導したRAW264.7細胞をG418（600μg/mL）を入れた培地で増殖させた破骨細胞を用いた。

【0036】

ERαをトランスフェクトさせたRAW264.7細胞を、100U/mLペニシリントリオム、100μg/mLストレプトマイシン入りのフェノールレッドフリーの10%非動化処理CD-FBSのα-MEM培地に懸濁し、48ウェルの培養プレートに20000個/ウェルになるように接種し100ng/mL RANKLの存在下において37℃、5%炭酸ガス中において培養した。同時にDMSOに溶解させた茸抽出物（100mg/mL）をそれぞれ培養液に0.1%添加し培養した。ヤマブシタケ抽出物は1%添加し培養した。4日後に培地を交換し、さらに7日間培養後、培地を吸引除去し、PBSで2回洗浄後、細胞を固定し、シグマ社製の酒石酸抵抗性フォスファターゼ染色キットを用いて染色した。

【0037】

その結果、少なくともマコモタケ、茶樹茸、松茸のクロロホルム抽出部に破骨細胞の分化・増殖に対する高い阻害活性を確認した。松茸には細胞死誘導が観察された。ヤマブシタケのクロロホルム抽出部にも上記3種の茸に比較すれば弱いながら破骨細胞の分化・増殖に対する抑制活性が見られた。

【非特許文献7】Journal of Bone and Mineral Research, 15, 1477-1488 (2000)

【非特許文献8】Experimental Cell Research, 216, 335-342 (1995)

【非特許文献9】Biochemical Biophysical Research

ch Communications, 264, 590-595 (1999)

【図面の簡単な説明】

【0037】

【図1】破骨細胞の分化・増殖に対する阻害活性を表す写真であって、RANKL（-）のコントロール状態を表す写真である。

【図2】破骨細胞の分化・増殖に対する阻害活性を表す写真であって、RANKL（+）のネガティブコントロール状態を表す写真である。

【図3】破骨細胞の分化・増殖に対する阻害活性を表す写真であって、マコモタケ抽出物添加におけるポジティブ状態を表す写真である。

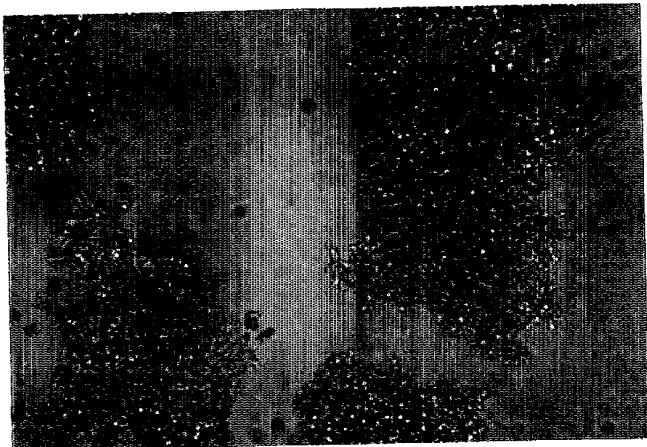
【図4】破骨細胞の分化・増殖に対する阻害活性を表す写真であって、茶樹茸抽出物添加におけるポジティブ状態を表す写真である。

【図5】破骨細胞の分化・増殖に対する阻害活性を表す写真であって、松茸抽出物添加におけるポジティブ状態を表す写真である。

【図6】破骨細胞の分化・増殖に対する阻害活性を表す写真であって、ヤマブシタケ抽出物添加における微弱なポジティブ状態を表す写真である。

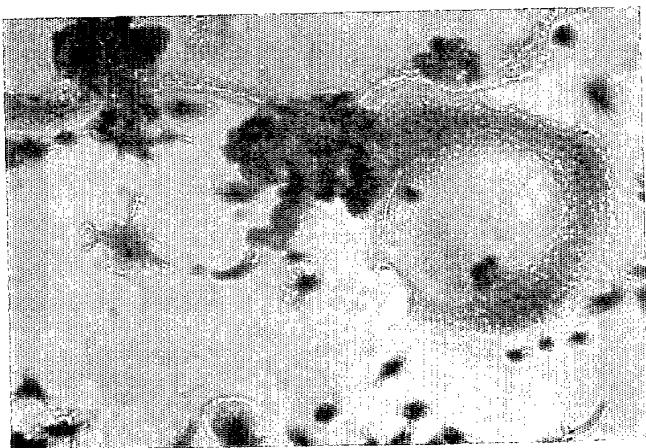
【書類名】 図面
【図 1】

図面代用写真(カラー)



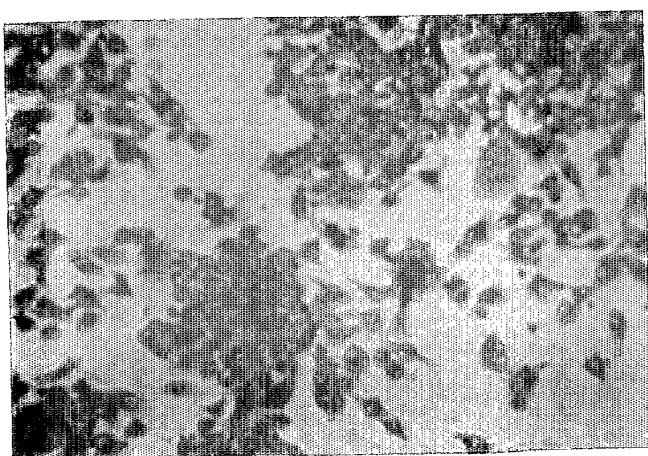
【図 2】

図面代用写真(カラー)



【図 3】

図面代用写真(カラー)



【図4】

図面代用写真(カラー)



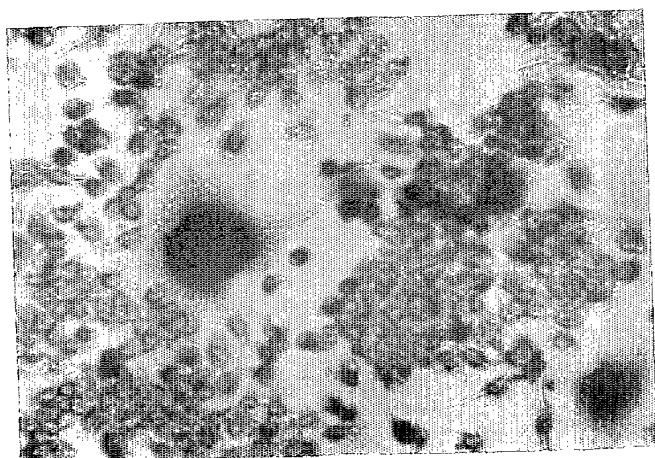
【図5】

図面代用写真(カラー)



【図6】

図面代用写真(カラー)



【書類名】要約書

【課題】破骨細胞の分化または増殖の抑制剤または抑制食品を提供する。

【解決手段】茸粉碎物、茸抽出物を含有することを特徴とする破骨細胞の分化増殖抑制剤や茸粉碎物、茸抽出物を含有することを特徴とする破骨細胞の分化増殖抑制食品を提供すること。

特願 2004-114736

出願人履歴情報

識別番号

[504141768]

1. 変更年月日

2004年 3月15日

[変更理由]

新規登録

住 所

静岡県駿東郡清水町堂庭226番地32

氏 名

有限会社康源